

中国医院药学杂志, 2002, 22(6): 19-21.

[3] 黄慧莲, 刘科兰, 刘荣华, 等. 国内外蒺藜科植物药效研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(11): 2899-2902.

[4] 李广诚, 董克礼, 朱 宏. 复方蒺藜颗粒治疗中晚期非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中国医学工程, 2007, 15(3): 269-270.

[5] 张莲萍. 蒺藜抗肿瘤活性成分及其质量分析研究[D]. 武汉: 湖北中医学院, 2007.

[6] 王 涛, 杨华山. 蒺藜乙酸乙酯提取物抗癌机制研究[J]. 肿瘤基础与临床, 2007, 20(2): 129-131.

[7] 吴先闯, 宋卫中, 宋晓勇, 等. 蒺藜体外抗肝癌细胞活性物质筛选[J]. 河南大学学报 (医学版), 2016, 35(2): 89-91.

[8] 刘 敏, 郑小花, 朱根华, 等. 黑果蒺藜根茎化学成分的研究[J]. 中成药, 2017, 39(3): 540-543.

[9] 舒积成, 刘 敏, 朱根华, 等. 黑果蒺藜中 2 个新化学成分

(英文) [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 959-963.

[10] 李宇驰, 徐 妍, 肖培云, 等. 中药谱效学的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 673-675.

[11] 张 晶, 吕镇城, 郑 倩, 等. 金线莲抗肿瘤活性部位的体外筛选及对 LoVo 细胞凋亡的影响[J]. 中成药, 2017, 39(7): 1507-1511.

[12] 魏 晴, 魏 娜, 王秋红. 高良姜抗肿瘤活性部位筛选[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(7): 1621-1622.

[13] 陈 醒, 骆雨璇, 王 楠. 镰形棘豆总生物碱抗肿瘤活性部位的体外筛选[J]. 东南国防医药, 2017, 19(1): 37-41.

[14] 欧阳璐斯, 赖燕华, 王 予, 等. 高效液相色谱-分段检测法同时测定烟草中 14 种多酚类化合物[J]. 分析测试学报, 2021, 40(3): 411-416.

[15] 文一惠, 凌江红, 丛 军, 等. 金刚藤对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响[J]. 山东医药, 2020, 60(8): 15-18.

不同生态环境对冷蒿总黄酮积累的影响

薛 焱¹, 王同智^{2*}, 刘欣媛³, 高洪波³, 薛永志³
(1. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010110; 2. 内蒙古煤炭建设生态环境研究院, 内蒙古 呼和浩特 010021; 3. 包头医学院基础医学与法医学院, 内蒙古 包头 014040)

摘要: **目的** 比较不同生态环境对冷蒿总黄酮积累的影响。**方法** 索氏提取法提取冷蒿地上部分总黄酮, 硝酸铝-亚硝酸钠分光光度法测定总黄酮含量, 运用简单相关、偏相关分析、通径分析等逐步锁定地理、土壤因子对冷蒿总黄酮含量的影响。**结果** 不同生态环境冷蒿总黄酮含量比较, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 以荒漠草原产最高, 沙地和典型草原产次之, 草甸草原和森林草原产最低。冷蒿总黄酮含量与年均气温呈正相关 ($P<0.05$), 与纬度和速效 K 含量呈负相关 ($P<0.01$)。**结论** 年均气温、纬度和速效 K 含量是影响冷蒿总黄酮积累的主要地理和土壤因子, 荒漠草原是该成分积累的最适宜生态环境。

关键词: 冷蒿总黄酮; 生态环境; 偏相关分析; 通径分析

中图分类号: R282 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)11-3231-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.058

蒙药材阿给为菊科蒿属植物冷蒿 *Artemisia frigida* Willd., 别名小白蒿、菟毛蒿, 是蒙医常用药, 全草入蒙药或中药, 中国冷蒿集中分布于内蒙古地区^[1-2]。近年来, 随着中药材标准化工作深入, 为提高药材质量和临床效果, 药材道地性研究越来越被关注^[3-4], 但对蒙药材的道地性研究甚少。蒙药冷蒿在蒙古族民间有治疗出血疾病的史料记载^[5], 牧民取其嫩枝, 热水烫后, 和玉米面, 蒸煮后食用, 是一种含有粗蛋白及无氮浸出物的食物^[6]。目前, 阿给药

材来源为野生冷蒿, 随着土地日益荒漠化及药材大量开采, 冷蒿草原濒于退化。对冷蒿的药学研究主要集中于植物药材质量标准^[7]、生药学特征^[1]、炮制^[8]、化学成分^[9-10]及含量测定^[11]等方面的研究, 而对其有效成分的积累规律研究较少^[12], 尤其生态环境对冷蒿有效药用成分积累的影响未见报道。为科学地开发利用冷蒿, 本文采集不同生态环境的冷蒿作为实验材料, 分析其总黄酮积累与土壤、地理因子的关系, 为地道性冷蒿的采集, 提供了科学的依据,

收稿日期: 2020-01-15
基金项目: 国家自然科学基金项目 (81641107); 内蒙古自然科学基金资助项目 (2015MS0857); 内蒙古医科大学博士启动基金 (YKD2020BSJJ)
作者简介: 薛 焱 (1974—), 女, 博士, 教授, 从事药用植物有效成分提取和药理机制研究。Tel: (0471) 6653152, E-mail: xyxy2172@163.com
*通信作者: 王同智 (1976—), 男, 博士, 研究员, 从事菌根及生态恢复研究。E-mail: wtz1976@163.com

为冷蒿种质资源筛选及质量评价提供一定的理论参考。

1 材料

1.1 药材和土壤 冷蒿 *Artemisia frigida* Willd. 于 2017 年 7

月从内蒙古 5 个地区采集, 选择株高相同的地上部分及根际土壤, 共 100 批, 经内蒙古医科大学药用植物学教研室鉴定确认为正品, 具体信息见表 1。

表 1 冷蒿采集地及所属生态环境

采集地	经度/(°)	纬度/(°)	年均气温/℃	海拔/m	生态环境特征	土壤类型
呼伦贝尔市海拉尔区	119. 78	49. 19	-2. 0	617	草甸草原	黑钙土
锡林郭勒盟锡林浩特	115. 96	43. 92	1. 5	1 280	典型草原	栗钙土
呼伦贝尔市额尔古纳	120. 18	50. 23	-5. 0	576	森林草原	草甸土
锡林郭勒盟正蓝旗	116. 01	42. 25	1. 7	1 301	沙地	沙壤土
乌兰察布市四子王旗	111. 71	41. 52	2. 9	1 488	荒漠草原	灰褐土

1.2 仪器与试剂 UV-3010 紫外分光光度计 (日本日立公司); BS110S 型电子分析天平 (德国 Startorius 公司); HH-601 数显恒温水浴锅 (金坛市亮丹实验仪器厂)。所用试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 土壤采集及理化性质测定 有机质含量测定采用重铬酸钾法, 土壤 pH 测定采用电位法, 水解性氮采用碱解扩散法测定, 速效磷 (P) 测定采用 NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法, 速效钾 (K) 测定采用 NH₄OAc 浸提-火焰光度法。

2.2 冷蒿总黄酮含量测定 索氏提取法提取冷蒿总黄酮, 硝酸铝-亚硝酸钠分光光度法测定含量, 其对照品溶液制备、标准曲线绘制、样品溶液制备, 以及精密度、重复性、稳定性、加样回收率试验参照文献 [12] 报道。

表 2 各地区土壤理化性质

采集地	有机质/%	土壤 pH	水解性 N/(mg·kg ⁻¹)	速效 P/(mg·kg ⁻¹)	速效 K/(mg·kg ⁻¹)
呼伦贝尔市海拉尔区	5. 99 ^b	6. 90 ^c	0. 299 ^b	5. 27 ^b	242. 90 ^b
锡林郭勒盟锡林浩特	3. 19 ^c	7. 35 ^a	0. 227 ^b	5. 09 ^b	213. 66 ^b
呼伦贝尔市额尔古纳	12. 86 ^a	6. 70 ^c	0. 553 ^a	37. 69 ^a	545. 38 ^a
锡林郭勒盟正蓝旗	0. 51 ^c	7. 45 ^b	0. 016 ^d	4. 74 ^c	254. 67 ^b
乌兰察布市四子王旗	2. 85 ^d	7. 90 ^b	0. 194 ^c	5. 97 ^b	126. 72 ^c

注: 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

3.2 总黄酮含量 按“2.2”项下方法测定, 发现吸光度在 503 nm 波长处敏感, 回归方程在 0~96.8 μg/mL 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 4$), 精密度、重复性、稳定性、加样回收率试验均符合相关要求。表 3、图 1 显示, 不同地区药材总黄酮含量存在显著差异 ($P<0.05$), 以乌兰察布市四子王旗 (荒漠草原) 和锡林郭勒盟正蓝旗 (沙地) 较高, 锡林郭勒盟锡林浩特市 (典型草原) 次之, 呼伦贝尔市海拉尔区 (草甸草原)、呼伦贝尔市额尔古纳 (森林草原) 较低。

表 3 不同地区冷蒿总黄酮含量比较 (% , $\bar{x}\pm s$, $n=100$)

采集地	含量	最小值	最大值	<i>F</i> 值
呼伦贝尔市海拉尔区	2. 43±0. 05 ^d	2. 37	2. 47	12. 134
锡林郭勒盟锡林浩特	2. 99±0. 09 ^c	2. 90	3. 08	
呼伦贝尔市额尔古纳	1. 98±0. 13 ^c	1. 85	2. 11	
锡林郭勒盟正蓝旗	4. 12±0. 12 ^b	4. 00	4. 24	
乌兰察布市四子王旗	4. 30±0. 04 ^a	4. 26	4. 34	

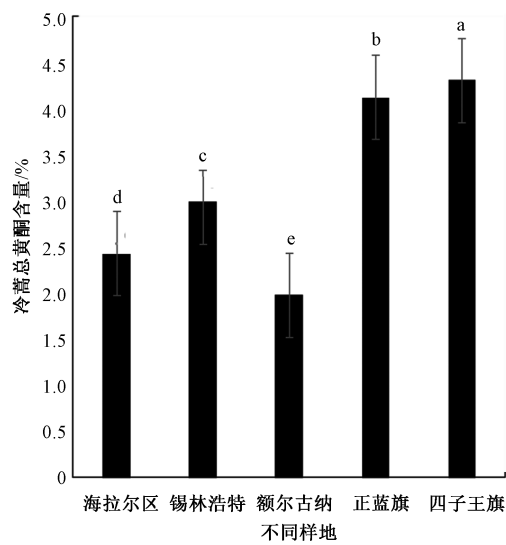
注: 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

3.3 地理、土壤因子与总黄酮含量的简单相关分析 表 4 显示, 总黄酮含量与年均气温、海拔呈极显著正相关关系

2.3 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理, 对地理、土壤因子与冷蒿总黄酮含量进行简单相关分析, 确定简单相关因子, 再对其进行偏相关分析, 排除各因子之间的相互干扰, 确定影响冷蒿黄酮含量主要因子, 然后对主要因子进行通径分析和回归分析, 计算影响黄酮含量的主要因子系数及影响程度。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 土壤理化性质 表 2 显示, 5 个地区之间土壤理化性质均存在显著差异 ($P<0.05$), 其中除 pH 外, 呼伦贝尔市额尔古纳产药材各项指标均高于其他地区, 土壤营养丰富; 锡林郭勒盟正蓝旗产药材各项指标均低于其他地区, 土壤相对贫瘠。



注: 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 1 不同地区冷蒿总黄酮含量

($P<0.01$), 与经度、纬度、有机质和速效 K 呈显著负相关

关系 ($P<0.05$)，而与水解性 N 和速效 P 无相关性 ($P>0.05$)；年均气温与海拔呈显著正相关 ($P<0.05$)，与经度、纬度、有机质和速效 K 呈显著负相关 ($P<0.05$)；海拔与经度、纬度呈负相关 ($P<0.05$)；有机质与水解性 N 呈极显著正相关 ($P<0.01$)，与速效 P 呈显著正相关 ($P<$

0.05)；速效 P 和速效 K 呈显著正相关 ($P<0.05$)。但上述相关关系不能真正反映生态环境因子对冷蒿总黄酮含量的影响及各因子之间的相互作用，为排除各因子相互干扰，须进行偏相关分析。

表 4 地理、土壤因子与总黄酮含量的简单相关分析结果

	年均气温	海拔	经度	纬度	有机质	土壤 pH	水解性 N	速效 P	速效 K	总黄酮含量
年均气温	1.000	—	—	—	—	—	—	—	—	—
海拔	0.956 *	1.000	—	—	—	—	—	—	—	—
经度	-0.899 *	-0.943 *	1.000	—	—	—	—	—	—	—
纬度	-0.964 **	-0.990 **	0.921 *	1.000	—	—	—	—	—	—
有机质	-0.932 *	-0.821	0.694	0.871	1.000	—	—	—	—	—
pH	0.543	0.453	0.547	0.389	0.856 *	1.000	—	—	—	—
水解性 N	-0.866	-0.765	0.618	0.839	0.979 **	-0.345	1.000	—	—	—
速效 P	-0.823	-0.622	0.545	0.664	0.917 *	0.834 *	0.853	1.000	—	—
速效 K	-0.894 *	-0.739	0.752	0.751	0.866	0.345	0.767	0.939 *	1.000	—
总黄酮	0.995 **	0.926 *	-0.866 *	-0.947 *	-0.958 *	0.567	-0.903	-0.864	-0.913 *	1.000

注：** $P<0.01$ 表示极显著相关，* $P<0.05$ 表示显著相关。

3.4 地理、土壤因子与总黄酮含量的偏相关分析 在“3.3”项下结果基础上，剔除相关性较差的土壤 pH、水解性 N、速效 P，通过 SPSS 25.0 软件中的 Partial 分析程序对其他因子与总黄酮含量进行偏相关分析。

一阶偏相关分析结果表明，无论控制哪几个因子，相关系数 r 均大于 0.95，年均气温与总黄酮含量之间的偏相关系数达到极显著水平 ($P<0.01$)，呈正相关性；纬度、速效 K 与总黄酮含量之间的偏相关性达到显著水平 ($P<0.05$)，呈负相关性；海拔、经度、有机质对总黄酮积累无明显影响 ($P>0.05$)。

3.5 地理、土壤因子与总黄酮含量的多元回归分析及通径分析 将年均气温、纬度、速效 K 作为自变量，分别用 X_1 、 X_2 、 X_3 表示；总黄酮含量作为因变量，用 Y 表示，进行多元回归分析，得方程为 $Y=6.067+0.625X_1-0.461X_2-0.324X_3$ ， $P=0.000\ 31$ ，可知年均气温与总黄酮含量存在正相关关系，前者每增加 1 个单位，后者平均增加 0.625；纬度与总黄酮含量存在负相关关系，前者每增加 1 个单位，后者平均降低 0.461；速效 K 与总黄酮含量存在负相关关系，前者每增加 1 个单位，后者平均降低 0.324。

由通径分析可知，年均气温、纬度、速效 K 对总黄酮含量直接影响作用的通径系数分别为 $r_{1y}=0.734$ ， $r_{2y}=-0.242$ ， $r_{3y}=-0.255$ 。显著性检验结果表明，上述 3 个因素通径系数的显著性均小于 0.05，即对总黄酮含量均有显著影响。图 2 显示，年均气温对总黄酮积累的影响是正向的；纬度、速效 K 对总黄酮积累的影响是负向的；纬度对年均气温、速效 K 也存在负向影响。这符合内蒙古纬度越高，年均气温越低的基本事实，并且也可解释为纬度通过影响年均气温来影响总黄酮含量，纬度与速效 K 分布呈负相关现象，即内蒙古高纬度高地区速效 K 含量偏低。

4 讨论

4.1 冷蒿总黄酮积累与土壤营养 冷蒿总黄酮含量并未随土壤肥力的增高而增加 (图 1、表 4)，土壤营养丰富的额

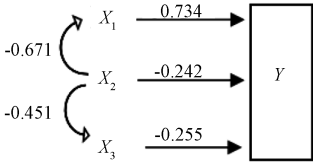


图 2 年均气温 (X_1)、纬度 (X_2)、速效 K (X_3) 对总黄酮含量 (Y) 的通径分析

尔古纳地区冷蒿总黄酮含量并不是最高的，反而内蒙古西部的四子王旗含量却是最高，这说明土壤贫瘠的内蒙古西部草原可能是药用冷蒿的最佳产地。2004 年，Yan 等^[13]研究表明药用品质较高的野生红景天分布于土壤速效 P 较为缺乏的地区，这与本研究有相同之处。但与卢丽兰^[14]研究认为土壤营养越好对药材广藿香药用成分积累越有利正好相反，分析其原因可能是因为卢丽兰的研究是基于室内控制实验，设置不同水肥条件情况下，施肥对药用成分的影响，而本研究是基于自然环境下，天然冷蒿的药用成分与土壤营养的关系。由此可见，水、肥、温度均有利的室内控制实验与自然条件下药用植物的有效成分的积累机制是有区别的，也有可能是广藿香与冷蒿的物种差异造成的，究竟是何原因造成高总黄酮含量的冷蒿分布于相对营养缺乏的四子王旗草原，还需要下一步采取异地移植栽培实验的方法进一步研究。

土壤中速效 K 对冷蒿总黄酮含量积累有负向作用 (图 2)，岳聪慧等^[15]研究也表明不同栽培区土壤中磷、钾以及有机质不同，附子品种间双酯型生物碱以及总碱含量差异明显。内蒙古地区钾元素分布是由西到东钾元素含量逐渐递减，冷蒿总黄酮含量逆钾元素分布梯度分布^[16]，实验分析结论与自然背景数据是吻合的，间接印证了冷蒿总黄酮积累对钾元素是敏感的，需要在以后的研究中进行精准室内试验加以进一步验证。

4.2 高品质冷蒿药材的最佳分布地 通径分析图 2 可知，

年均温度对冷蒿总黄酮的积累贡献最大，四子王旗恰恰是纬度最低、年均温度最高的地区，冷蒿能够适应该地区贫瘠土壤，并在温度较高的温带四子王旗草原完成药用成分的积累，其合成和积累不仅与植物的基因型有关，与生态环境和土壤也有着密不可分的联系，生态环境条件变化将引起次生代谢产物含量的变化^[16-20]。不同生长环境经纬度、光照的强度、温度、空气湿度等生态因子不同对药用成分含量的累积影响较大^[21]。已有的研究显示黄花蒿^[21]、黄芩^[22]和紫苏籽^[23]中多数次生代谢产物与纬度成负相关，而与温度成正相关等现象，本研究也显示冷蒿总黄酮含量与纬度成负相关，而与年均气温成正相关，这些研究都表明药用植物有效成分对于能量的需求是趋同性，阳光充足、温度较高的低纬度地区对有效成分积累有积极作用。高纬度环境不利于冷蒿总黄酮的积累，纬度越高，太阳高度角越低，太阳的辐射能量越低，冷蒿种群接受的光、热越少^[24]，冷蒿次生代谢物的总黄酮合成越少，年均气温对冷蒿总黄酮含量影响也有类似之处。综上所述，冷蒿的适宜生态环境为年均气温高、纬度低和速效 K 含量低的荒漠草原（乌兰察布市四子王旗）。

参考文献：

[1] 布日额，阿拉腾图亚，包金泉，等. 蒙药阿给的生药学研究[J]. 中国民族医学杂志，1998，4(S1)：53.

[2] 图布兴，代那音台，韩那仁超克图，等. 蒙药小白蒿的研究概况[J]. 中国民族民间医药杂志，2017，26（12）：63-68.

[3] 李 梦，侯旭桀，张宪宝，等. 道地药材生长环境数据库的构建[J]. 中国中药杂志，2019，44(14)：3010-3014.

[4] 张明华，封 亮，胡绍英，等. 药材道地性的物质基础本质：组分结构的独特性[J]. 中国中药杂志，2013，38（1）：136-140.

[5] 张 婉，唐 丽，谢 坤，等. 蒙药阿给制炭工艺的实验研究[J]. 时珍国医国药，2008，19(11)：2587-2588.

[6] 刘 越，王 真，张宝辉，等. 内蒙古地区蒙药冷蒿的植物资源调查[J]. 安徽农业科学，2010，38（8）：4077-4079.

[7] 内蒙古药监局. 内蒙古蒙药材质量标准（增补本）[M]. 呼和浩特：内蒙古人民出版社，2015：13-14.

[8] 珠 娜，萨茹拉，那生桑. 蒙药小白蒿的炮制工艺及炮制品的药理研究[J]. 中国现代中药，2015，17（11）：

1164-1166.

[9] 刘 丹，师宁宁，吴叶红，等. 冷蒿的化学成分研究[J]. 中草药，2017，48(24)：5090-5098.

[10] Dylenova E P, Zhigzhitzhapova S V, Randalova T E, *et al.* Composition of lipid fraction from the aerial part of *Artemisia frigida*[J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(2)：339-341.

[11] Wang Q H, Ao W L J, Tai W Q. Simultaneous determination of seven flavonoids in aerial parts of *Artemisia frigida* by HPLC [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(3)：252-258.

[12] 薛 焱，王同智，薛永志，等. 蒙药材阿给有效成分的积累规律[J]. 中华中医药杂志，2015，30(4)：1319-1322.

[13] Yan X F, Wu S X, Wang Y, *et al.* Soil nutrient factors related to salidroside production of *Rhodiola sachalinensis* distributed in Changbai Mountain [J]. *Environ Exp Bot*, 2004, 52（3）：267-276.

[14] 卢丽兰. 氮磷钾水平及其配合施用对广藿香生长及药效成分影响的研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2016.

[15] 岳聪慧，侯大斌，匡青芬. 附子不同栽培区土壤养分对其双酯型生物碱的比较研究[J]. 湖北农业科学，2014，53（11）：2594-2597.

[16] 郑海春. 内蒙古土壤资源数据册[M]. 呼和浩特：内蒙古人民出版社，1993：230-359.

[17] 黄璐琦，郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成[J]. 中国中药杂志，2007，32(4)：277-280.

[18] 黄璐琦，张瑞贤. “道地药材”的生物学探讨[J]. 中国药理学杂志，1997，32(9)：53-56.

[19] 李 霞，王 洋，阎秀峰. 水分胁迫对黄檗幼苗三种生物碱含量的影响[J]. 生态学报，2007，27(1)：58-64.

[20] 梁 娟，郭泽宇，叶 漪. 不同土壤水分条件对七叶一枝花光合特性及有效成分皂苷含量的影响[J]. 植物生理学报，2014，50(1)：56-60.

[21] 张小波，郭兰萍，黄璐琦，等. 广西青蒿生产适宜性的区域差异分析[J]. 资源科学，2008(5)：759-764.

[22] 郭兰萍，王 升，张 霁，等. 生态因子对黄芩次生代谢产物及无机元素的影响及黄芩道地性分析[J]. 中国科学：生命科学，2014，44(1)：66-74.

[23] 沈 奇，赵继献，邱雪柏，等. 环境因子对紫苏籽粒产量及品质性状影响研究[J]. 中国中药杂志，2018，43(20)：4033-4043.

[24] Jaakola L, Hohtola A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants[J]. *Plant Cell Environ*, 2010, 33(8)：1239-1247.